



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103018436 A

(43) 申请公布日 2013. 04. 03

(21) 申请号 201210542065. X

(22) 申请日 2012. 12. 14

(71) 申请人 山东滨州沃华生物工程有限公司

地址 256606 山东省滨州市黄河六路 218 号

(72) 发明人 孟照洁 马景霞 贾红梅

(74) 专利代理机构 济南舜源专利事务所有限公

司 37205

代理人 张建成

(51) Int. Cl.

G01N 33/531 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 2 页

(54) 发明名称

一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法,该方法创造性的用家兔作为免疫受体,制备鸡传染性支气管炎阳性血清,并且对血清制备过程中的免疫剂量、免疫次数、免疫间隔、免疫方式、采血时间、血清处理和检测等做了系统调整。使通过家兔制备得到的鸡传染性支气管炎阳性血清,得到的抗体滴度高,避免了同源的污染,品质更加稳定,而且该方法简化了条件,操作方便,节约了时间和原材料,易于实施,具有较好的经济效益和社会效益。

1. 一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法,其特征在于制备方法及步骤如下:

(1) 挑选体重在 2-3kg 的健康家兔;

(2) 制备传染性支气管炎毒株注射液,对家兔采用耳缘静脉注射的方式进行传染性支气管炎毒株的免疫,免疫剂量采用逐次递加方式,每间隔 7 天免疫一次,共免疫 4 次;

(3) 采集不同免疫次数后的等量血液,进行 HI 实验检测,检测兔血血清中抗体滴度是否达到  $2^{10}$  以上,以确定采血时间;

(4) 当兔血血清中抗体滴度达到  $2^{10}$  以上时,采集血液,将采集后的血液放到 37℃ 恒温箱恒温放置 1 小时,然后放入 4℃ 冰箱 8-12 小时,然后将血液分出血清,对血清进行离心过滤,将过滤后的血清进行无菌分装、保存;

(5) 无菌条件下对分装保存的血清进行 HI 实验检测,确定纯净和滴度。

2. 根据权利要求 1 所述一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法,其特征在于:每次免疫剂量为 1-4ml。

3. 根据权利要求 1 所述一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法,其特征在于:步骤(3)中采血时间定为第 4 次免疫后的第 5 天。

4. 根据权利要求 1 所述一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法,其特征在于:步骤(4)中采用 4000r/min 离心机对血清离心 10min,然后用 0.22um 滤膜过滤。

## 一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及属于兽用生物制品培育技术领域,具体涉及一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法。

### 背景技术

[0002] 在对生物制品中对活疫苗的鉴别检验和外源病毒检验时,特异性血清中和试验是常用的方法。目前国内外制备特异性血清时,通常是用同源的 SPF 动物作为免疫受体。所谓的 SPF 动物,即无特定病原体动物(指动物体内无特定的微生物和寄生虫)是不携带潜在感染或条件致病菌,但带有非特定的微生物和寄生虫的动物。制备特异性血清对 SPF 动物的标准要求较高,很难获得。而采用普通级的同源动物作为免疫受体制备的特异性血清,则很容易受到其它病毒的污染,进而影响血清的特异性和可靠性。因此制备特异性血清时能否采用非同源的免疫受体进行制备,以及制备的特异血清的品质成为目前兽用生物制品领域内研究的方向。

### 发明内容

[0003] 本发明的目的是,针对现有技术的不足而提出一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法,该方法采用健康的家兔制备抗鸡传染性支气管(IB)特异血清,避免了同源的污染,得到的抗体滴度高,品质稳定,且操作方便,实验条件要求低,易于实现。

[0004] 本发明的技术方案是通过如下步骤来实现的:

一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法,其制备方法及步骤如下:

(1) 挑选体重在 2-3kg 的健康家兔;

(2) 制备传染性支气管炎毒株注射液,对家兔采用耳缘静脉注射的方式进行传染性支气管炎毒株的免疫,免疫剂量采用逐次递加方式,每次免疫剂量为 1-4ml,每间隔 7 天免疫一次,共免疫 4 次;

(3) 采集不同免疫次数后的等量 0.5ml 血液,进行 HI 实验检测,检测兔血血清中抗体滴度是否达到  $2^{10}$  以上,以确定采血时间;

(4) 当兔血血清中抗体滴度达到  $2^{10}$  以上时,采集血液,将采集后的血液放到 37℃ 恒温箱恒温放置 1 小时,然后放入 4℃ 冰箱放置 8-12 小时,然后取出血液,将血液分出血清,用 4000r/min 离心机对血清离心 10min,然后用 0.22um 滤膜过滤,将过滤后的血清进行无菌分装、保存;

(5) 无菌条件下对分装保存的血清进行 HI 实验检测,确定纯净和滴度。

[0005] 其中步骤(3)中采血时间一般定为第 4 次免疫后的第 5 天。

[0006] 本发明创造性的应用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清,并且对血清制备过程中的免疫剂量、免疫次数、免疫间隔、免疫方式、采血时间、血清处理和检测等做了系统调整。使通过家兔制备得到的鸡传染性支气管炎阳性血清,得到的抗体滴度高,避免了同源的污染,品质更加稳定,而且该方法简化了条件,操作方便,节约了时间和原材料,易于实施,

具有较好的经济效益和社会效益。

### 具体实施方式

[0007] 为了使本发明的技术方案更加清楚明白,下面结合具体实施例对本发明作进一步的说明。

[0008] 实施例:

本发明实施例中,除另有说明外,所有份数和百分比均按体积计算。

[0009] 材料:制造本品用传染性支气管炎毒株为 H120 毒株和 H52 毒株,检测用的为荷兰购买的 M41 抗原,体重 2.5kg 的健康家兔一只。

[0010] 实施步骤:

(1)先将 H120 毒株和 H52 毒株等量混合,做 3 倍稀释,然后向家兔耳缘静脉注射 0.5ml,注射 7 天后采集血液 0.5ml,检测抗体为  $2^2$ 。

[0011] (2)第一次免疫后 7 天进行第二次免疫,将 H120 毒株和 H52 毒株等量混合,做 2 倍稀释,然后向家兔耳缘静脉注射 1ml,注射 7 天后采集血液 0.5ml,检测血清抗体为  $2^7$ 。

[0012] (3)第二次免疫后 7 天进行第三次免疫,将 H120 毒株和 H52 毒株等量混合,不做稀释,然后向家兔耳缘静脉注射 1ml,注射 7 天后采集血液 0.5ml,检测血清抗体为  $2^9$ 。

[0013] (4)第三次免疫后 7 天进行第四次免疫,将 H120 毒株和 H52 毒株等量混合,不做稀释,然后向家兔耳缘静脉注射 2ml,分别于注射后 3 天、5 天采集血液 0.5ml,其中免后 5 天采集的血液中,检测血清抗体为  $2^{11}$ ,此时进行心脏采血。

[0014] (4)将采集后的血液放到 37℃ 恒温箱恒温放置 1 小时,然后取出放到 4℃ 冰箱放置 8-12 小时,然后取出血液,将血液分出血清,用 4000r/min 离心机对血清离心 10min,然后用 0.22um 滤膜过滤,过滤后进行无菌分装,0.5ml/瓶。

[0015] (5)无菌条件下对分装保存的血清进行 HI 实验检测,HI 检测  $2^{10}$  以上,即鸡传染性支气管炎阳性血清制备完成。

专利名称(译)	一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN103018436A</a>	公开(公告)日	2013-04-03
申请号	CN201210542065.X	申请日	2012-12-14
[标]申请(专利权)人(译)	山东滨州沃华生物工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	山东滨州沃华生物工程有限公司		
[标]发明人	孟照洁 马景霞 贾红梅		
发明人	孟照洁 马景霞 贾红梅		
IPC分类号	G01N33/531		
代理人(译)	张建成		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及一种用家兔制备鸡传染性支气管炎阳性血清的方法，该方法创造性的用家兔作为免疫受体，制备鸡传染性支气管炎阳性血清，并且对血清制备过程中的免疫剂量、免疫次数、免疫间隔、免疫方式、采血时间、血清处理和检测等做了系统调整。使通过家兔制备得到的鸡传染性支气管炎阳性血清，得到的抗体滴度高，避免了同源的污染，品质更加稳定，而且该方法简化了条件，操作方便，节约了时间和原材料，易于实施，具有较好的经济效益和社会效益。